

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(片山 千佳) 印

(学位論文のタイトル)

Low level of stromal lectin-like oxidized LDL receptor 1 and CD8+ cytotoxic T lymphocytes indicate poor prognosis of colorectal cancer

(腫瘍間質LOX1低発現かつ腫瘍浸潤細胞傷害性T細胞低浸潤を呈する大腸癌は予後不良である)

(学位論文の要旨)

【背景】腫瘍組織は癌細胞だけでなく、さまざまな細胞から構成され、腫瘍微小環境を形成している。さらに、腫瘍微小環境は腫瘍の増殖、治療抵抗性などに関係している。レクチン様酸化低密度リポタンパク質受容体-1 (lectin-like oxidized LDL receptor-1、以下LOX-1) は、腫瘍微小環境において腫瘍免疫抑制に重要な骨髄由来抑制細胞 (myeloid-derived suppressor cell、以下MDS C) の新規マーカーとして注目されている。LOX-1は酸化LDLの受容体であり、炎症、動脈硬化などに関与し、活性酸素の産生や脂質代謝異常により癌化にも関与することが知られている。LOX-1受容体は血管内皮細胞、平滑筋、マクロファージ、血小板などに低いレベルで発現している。マクロファージは腫瘍微小環境において抗腫瘍活性と腫瘍促進作用をもち、LOX-1発現が亢進すると、M2マクロファージへの分化が誘導されるとの報告がある。また、LOX-1は腫瘍細胞にも発現し、大腸癌では進行するほど高発現で、乳癌では予後不良因子となるとの報告がある。しなしながら、大腸癌における腫瘍微小環境の研究として、腫瘍間質におけるLOX-1陽性細胞に注目した研究は少なく、詳細な検討はなされていない。さらに、大腸癌における腫瘍局所の免疫と腫瘍間質でのLOX-1発現の関係については報告がない。この研究では、大腸癌臨床検体を用いて、腫瘍浸潤免疫細胞におけるLOX-1発現の意義を検討した。

【方法と対象】対象は1990～2009年に手術を施行した原発性大腸癌128例である。切除標本の切片を用いてLOX-1、CD8、 β -cateninの免疫染色を行った。また、凍結切除検体から作製したcDNAを用いて、HRM法によるKRAS遺伝子およびBRAF遺伝子の変異解析を実施した。MDSCは抑制性サイトカインIL-10を産生し、CD8によるIFN- γ の産生も阻害するため、cDNAを用いてreal-time RT-PCR法によるIFN- γ およびIL-10の発現量の測定を行った。腫瘍間質LOX-1陽性細胞 (間質LOX-1) 数の中央値で低発現群 (L群) と高発現群 (H群) に分けた。腫瘍浸潤CD8陽性細胞傷害性T細胞 (CD8+ cytotoxic T lymphocytes、以下CD8+CTL) についても同様に2群に分けた。間質LOX-1レベルと、CD8+CTL、サイトカイン (IFN- γ 、IL-10) 発現量、遺伝子変異、臨床病理学的因子、および予後との関係を検討した。さらに、腫瘍間質LOX-1を発現する細胞を同定するために、代表切片でLOX-1とMDSCマーカー (CD11b、CD15)、造血細胞マーカー (CD45、CD3、CD20、CD163)、線維芽細胞マーカー (α -SMA) の多重蛍光免疫染色を行った。

【結果】122例 (95.3%) で腫瘍細胞におけるLOX-1発現を認めた。また、間質に浸潤している炎症細胞の一部にLOX-1発現を認めた (range: 0-5.4 \times 10³ cells/mm²)。間質LOX-1-H群は有意に予後良好となった ($p = 0.02$)。CD8+CTL-H群はL群に比べて有意に予後良好となった ($p = 0.013$)。LOX-1とCD8を組み合わせると、間質LOX-1-L/CD8+CTL-L群が有意に予後不良となった ($p = 0.009$)。さらに、間質LOX-1-L/CD8+CTL-Lは、多変量解析において予後不良の最も強力な独立した予後因子であった ($p = 0.004$, HR: 8.55, 95%CI: 1.92-37.9)。間質LOX-1はCD8+CTL、IL-10とIFN- γ の発現量と関連を認めなかった。Wnt/ β -cateninシグナル伝達の活性化が間質LOX-1/CD8+CTLの組み合わせ状態で異なっているかどうかを評価するために、 β -cateninの核内移行を評価した。間質LOX-1-H/CD8+CTL-Hおよび間質LOX-1-L/CD8+CTL-Lをそれぞれ20例評価したが、核内 β -カテニン陽性率は、間質LOX-1-L/CD8+CTL-Lが間質LOX-1-H/CD8+CTL-H

よりも高かったが、統計的な有意性はなかった（60% vs. 45%, $p = 0.527$ ）。多重蛍光免疫染色でLOX-1陽性細胞はCD45陽性、CD3陰性、CD20陰性、 α -SMA陰性で、リンパ球以外の造血系細胞であった。さらに、間質LOX-1陽性細胞のほとんどはCD163陽性であり、CD163+腫瘍浸潤マクロファージであることが示された。

【考察】

本研究の検討においてはLOX-1陽性細胞が腫瘍間質に多いほうが予後良好となり、間質LOX-1が腫瘍微小環境において免疫抑制に働いているという結果は得られなかった。大腸癌臨床検体における間質LOX-1陽性細胞はMDSCというよりは腫瘍浸潤マクロファージを評価していると考えられた。以前の報告でも、大腸癌では高密度の腫瘍浸潤マクロファージ浸潤が予後に良い影響を与えることが報告されており、腫瘍間質のLOX-1陽性細胞はマクロファージを評価し、予後良好因子となったと考えられる。間質LOX-1陽性細胞とCD8+CTLの浸潤が低い群が、もともと予後不良だった。免疫細胞浸潤に乏しい腫瘍は非炎症性腫瘍と呼ばれ、Wnt/ β -cateninシグナル伝達の活性化により免疫原性が低く、予後不良および治療抵抗性を示すとされている。大腸癌においてもWnt/ β -cateninシグナル伝達の活性化は腫瘍形成と腫瘍進行に関連しているとの報告がある。間質LOX-1-L/CD8+CTL-L群は非炎症性腫瘍であり、予後不良になったと考えられるが、本研究のコホートにおける核内 β -カテニン陽性率は間質LOX-1/CD8+CTLと統計的に有意な関連性を示さなかった。間質LOX-1/CD8+CTLの状態が大腸癌患者における予後不良と関連していた基本的なメカニズムを明らかにするには、より大きなコホートを使用したさらなる分析が必要である。

【結語】MDSCマーカーであるLOX-1は、大腸癌組織では主に腫瘍浸潤マクロファージで発現していた。LOX-1陽性マクロファージおよびCD8+CTLは、大腸癌の予後を予測するための有用なバイオマーカーとして役立つ可能性がある。